恙螨染色体分带的初步研究*

叶韵斌**　　王敦清
(福建医学院寄生虫学教研室，福州 350004)

摘要　本文报道应用胰酶法对微红纤恙螨 *Leptotrombidium rubellum*, 苍白纤恙螨 *L. pallidum* 和小板纤恙螨 *L. scutellare* 进行G带带型分析。三种恙螨染色体分别显示17、21、19条深带带纹，用CS-190机对每条显带的染色体进行薄层扫描，结果每一条深带显示一个峰，对微红纤恙螨和巨螯齿恙螨 *Odontacarus majesticus* 进行 BSG 法的C显带实验，均未见到带纹，从C带结果及对微红纤恙螨染色体扫描电镜的初步观察结果，提示恙螨染色体可能为泛着丝粒类型，本文根据恙螨染色体的分带情况，探讨了几种恙螨间的亲缘关系以及恙螨染色体的研究在分类上的意义。

关键词　恙螨　染色体　G带　C带

恙螨分布广，数目大，种类多。迄今为止，恙螨染色体的研究仅有 Shirai 等(1984)简要报道了地里纤恙螨 *Leptotrombidium deliense*、弗氏纤恙螨 *L. fletcheri* 和沙地纤恙螨 *L. arenicola* 的染色体核型，王灵岚、王敦清(1988)对地里纤恙螨、微红纤恙螨 *L. rubellum*、苍白纤恙螨 *L. pallidum*、小板纤恙螨 *L. scutellare* 和巨螯齿恙螨 (*Odontacarus majesticus*) 等的染色体进行了核型研究，叶韵斌、王敦清(1989)进行了高湖纤恙螨 *L. kaohuense* 的核型分析。从恙螨染色体的核型分析可获得有关恙螨染色体遗传学的特性，对以形态为主的恙螨分类作了重要的补充。但核型分析仅能看出大致的遗传特性，无法明显看出具有相同染色体数目的不同种间区别。本文对恙螨染色体G带和C带进行了研究，分析其染色体带型间差异，进一步探讨恙螨染色体遗传学特性及其在分类上的意义。

材料和方法

一、材料

从不同恙螨寄生区捕获野鼠，收集耳壳内饱食恙螨幼虫，经活体和玻片标本鉴定后，分别饲养于炭粉石膏底的培养器中，若虫和成虫以蚕卵喂养。

二、方法

(一) 染色体标本的制备

采用王灵岚和王敦清(1987)的改良空气干燥法。

(二) G带显带技术及薄层扫描分析

参考李国珍等(1985)的胰酶法。取制片1天的标本，用0.25%胰蛋白酶37℃处理15—30秒，自然干燥，1:20 Giemsa(pH6.8) 染色20分钟，凉干后镜检，取分散较好，带纹

* 本文于1990年1月收到。
国家自然科学基金资助项目。
** 现在福建省肿瘤医院研究室工作。

明显的标本进行显微摄影，冲洗放大，根据染色体的带型描绘G带模式图，带型确定以出现频率10%以上为准。

应用 CS-190 薄层扫描分析仪对每一条染色体进行薄层扫描分析(反射吸收波长为420λm)。

(三) C带显带技术

采用 BSG 法。取制片5—7天的标本，经60℃烘烤1—2小时，0.2mol/L HCl 室温作用30分钟，凉干后用5%氢氧化钡(新配制)于60℃水浴中作用3—10分钟，用预热的蒸馏水冲洗干净(尽可能除去玻片上残留的氢氧化钡)，凉干，置于60℃。2 × SSC溶液中处理1小时，蒸馏水冲洗，自然干燥，1:20 Giemsa(pH6.8) 染色30分钟，水洗，凉干，镜检。

(四) 恙螨染色体扫描电镜的初步观察

参考饭野晃启(李文镇等译，1984)的方法。先在光镜下观察用空气干燥法制备的染色体玻片，选择分散相较好，分裂相较多的部分，在钻石刀将这部分玻片切成5 × 5mm大小，真空喷金，扫描电镜下观察。

结 果

一. C带及扫描电镜观察

采用 BSG 法，进行了15次实验，共观察125个处于有丝分裂中期相的微红纤恙螨染色体标本，并尝试了其它几种C显带方法，均未见到C带带纹，每一染色体染色均匀。在一定数量的巨螯齿恙螨、苍白纤恙螨、小板纤恙螨经C显带处理的标本中也未观察到C带带纹。

扫描电镜下观察微红纤恙螨染色体单倍体可见，染色体为短棒状，甚至圆点状，表面较光滑，结构致密，未见到缢痕(图1A)。

二、G带带型分析

用胰酶法对微红纤恙螨、苍白纤恙螨、小板纤恙螨的染色体G带带型进行了分析，其数目如表1所示。

表1 三种纤恙螨 G 带带纹数目的统计

种 类	各染色体G带带纹数(条)								合 计
	1	2	3	4	5	6	7	8	
微红纤恙螨	3	3	3	2	2	2	2		17
苍白纤恙螨	4	3	4	3	2	2	2	1	21
小板纤恙螨	3	2	2	3	3	2	2	2	19

根据显带情况，描绘出G带模式图，见图2；图3为薄层扫描的结果。现将三种恙螨染色体G带带型分述如下。

1. 微红纤恙螨的G带带型(图1B) 每一染色体组共显示17条带，每一条染色体上深带区域均大于浅带区域，部分染色体端部浅染(图2A)，从薄层扫描图谱上看(图3A)，

图 1A　扫描电镜下的微红纤恙螨染色体　×10000 图 1B　微红纤恙螨G显带染色体　图 1C 苍白纤恙螨G显带染色体　图 1D　小板纤恙螨G显带染色体　图 1E　微红纤恙螨染色体,示两两染色体近乎平行排列

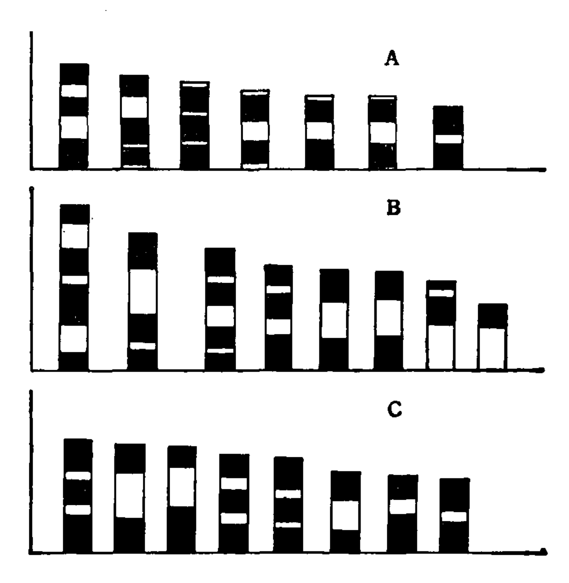


图 2　三种纤恙螨染色体G带模式图
A. 微红纤恙螨G带模式图　B. 苍白纤恙螨G带模式图
C. 小板纤恙螨G带模式图

第一对染色体可见 3 个峰,第二对、第三对染色体均可见 3 个峰，第四对染色体至少显示 2 个峰，其余的染色体明显可见各有 2 个峰。

2. 苍白纤恙螨的G带带型（图 1C)每一染色体组共显示 21 条带(图 2B),薄层扫描图谱(图 3B) 与模式图所示基本一致，但第四对染色体似显示不止 3 个峰，第六对染色体显示3—4个峰,第七对染色体显示至少 2 个峰。与微红纤恙螨比较,苍白纤恙螨G带带纹数较多,且每一染色体的端部多为深染，第七对染色体有一范围较大的端部浅染区域,约占此条染色体的 1/2，第八条染色体只显示一端部深带和一端部浅带,且浅带部分较宽,长达此条染色体全长的约 2/3。

3. 小板纤恙螨的G带带型(图 1D) 每一染色体组共显示19条带,每一染色体端部均

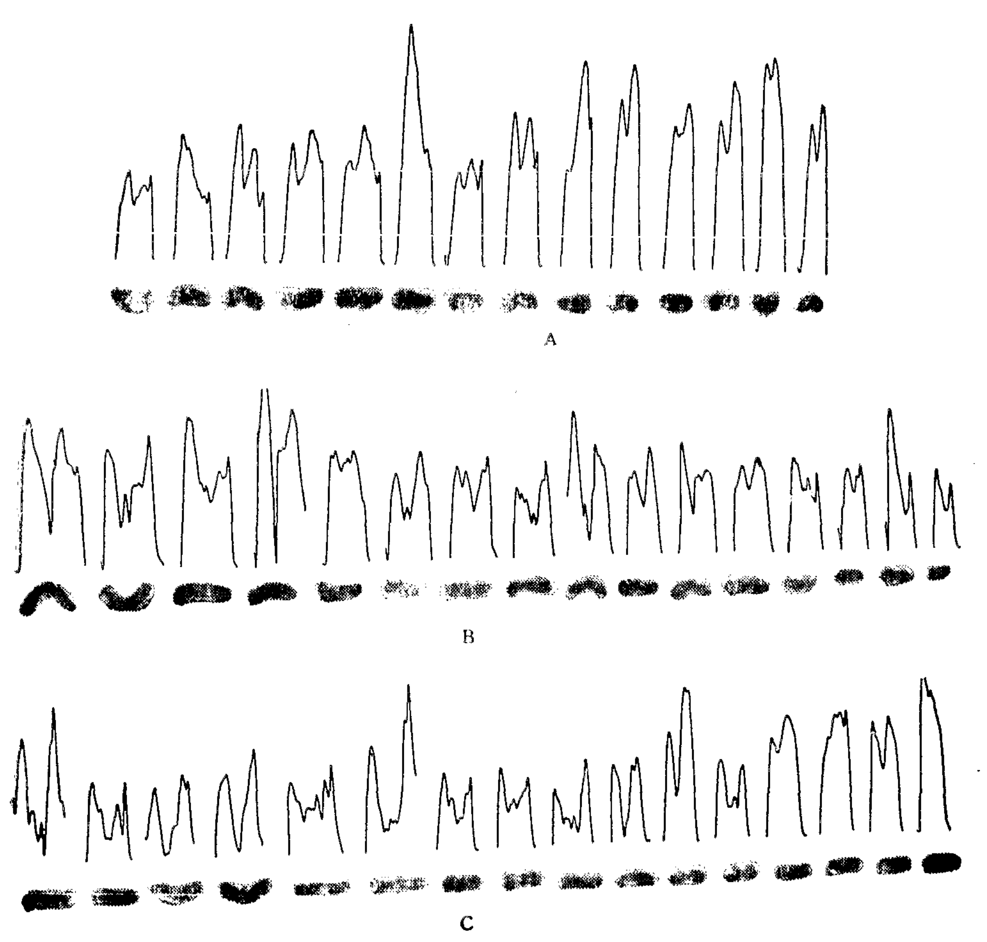


图 3 三种纤恙螨染色体G带薄层扫描图
A. 微红纤恙螨 B. 苍白纤恙螨 C. 小板纤恙螨

为深染区带且带较宽(图 2C)。从薄层扫描图谱上看（图 3C)，第二对染色体图谱显示各有 2 个主峰和 1 个肩峰,第三对染色体亦显示可能有 3 个峰,其余的薄层扫描图谱与模式图基本一致。

讨　　论

一、恙螨染色体带型分析

本研究对三种恙螨染色体的G带带型作了比较和分析。结果表明，这三种纤恙螨的染色体G带带纹的数目、位置、宽窄等各不相同。同为冬季种且均有8对染色体的苍白纤恙螨和小板纤恙螨在带型上的明显不同显示了种间的差异。实验中还观察了75个巨螯齿恙螨的染色体G带标本，未见到带纹出现，这可能是巨螯齿恙螨染色体比其它几种恙螨细小的缘故，也说明其染色体结构较为致密。由于材料来源的关系，对地里纤恙螨仅观察了40个分裂相，未见到G带带纹。地里纤恙螨和微红纤恙螨原被认为是同种的不同型，王敦清和廖灏溶(1984)进行了一系列的实验，将它们定为两个不同的种。从G带研究结果表明，地里纤恙螨比微红纤恙螨不易显带，提示二者在染色体结构上也存在着差异。

关于G带产生的机理一般认为，G带与染色体上的蛋白质和 DNA 均有关系，因此，恙螨染色体不易显带，带数较少，且区域宽，与其 DNA 分子中 AT 和 GC 含量以及分布有关，也与染色体上蛋白质成分、含量以及分布相联系的。

恙螨染色体的形态特征还表现在C带上，采用 BSG 法对恙螨染色体进行C带研究，未得到C带带纹，表明恙螨染色体上可能不存在比较集中的异染色质区域，即不存在明显的重复区域与非重复区域之分，染色体上染色质分布均匀。

综上所述似可提示，恙螨染色体为较低分化的染色体。

二、恙螨染色体着丝粒类型的探讨

Oliver(1977)曾对蜱螨染色体的类型进行了一些阐述，他认为蜱螨染色体至少存在二种着丝粒类型，即单着丝粒和泛着丝粒。我们的C带研究结果表明，几种恙螨染色体不显示C带带纹，提示恙螨染色体可能属于泛着丝粒类型。对微红纤恙螨染色体进行的扫描电镜初步观察表明，电镜下的染色体仍为短棒状甚至圆点状，结构较为致密，染色体表面较光滑，未见到缢痕。这一结果进一步为恙螨染色体是泛着丝粒类型的论据提供了形态学的证据。泛着丝粒染色体没有固定形成纺锤丝的细胞器，而是整个染色体形成一片向极的纺锤丝，它们在分裂中期是以宽面平行地向两极移动。在我们所观察的一些减数分裂过程的染色体标本(图1E)中，可明显见到每对染色体两两近乎平行地排列在一起，它们之间并不以某一点相连，这一现象再次表明恙螨染色体可能属泛着丝粒类型。

参　考　文　献

王灵岚、王敦清　1987　恙螨染色体制备方法的探讨。遗传 9(4)：32—4。
王灵岚、王敦清　1988　五种恙螨染色体核型的研究。昆虫学报 31(2)：171—5。
王敦清、廖灏溶　1984　«甲型»地里纤恙螨系一新种——微红纤恙螨描述(真螨目：恙螨科)。武夷科学 4：231—4。
叶韵斌、王敦清　1989　高湖纤恙螨染色体核型分析。地方病通报 4(4)：74—6。
李国珍　1985　染色体及其研究方法。科学出版社。
李文镇等译　1984　图解扫描电子显微镜——生物样品制备11染色体观察法。田中敬一，永谷隆编辑。科学出版社。第197—200页，第212—213页。
Oliver, J. H. Jr.　1977　Cytogenetics of mites and ticks. *Ann. Rev. Ent.* 22: 407—29.
Shirai, A. et al.　1984　Comparative Studies on the Karyotypes of *Leptotrombidium deliense*. *L. fletcheri* and *L. arenicola* (Acari: Trombiculidae). *J. Med. Ent.* 21(5):616—7.

PRELIMINARY STUDIES ON THE CHROMOSOMES BANDING OF SOME CHIGGER MITES

YE YUN-BIN WANG DUN-QING

(Department of Parasitology, Fujian Medical College, Fuzhou 350004)

This is a report of the G-banding analysis of *Leptotrombidium rubellum*, *L. pallidum* and *L. scutellare* by treatment with trypsin. They appear 17, 21, 19 bands respectively. Every banded chromosome is tested with CS-190 slight scanning analysis apparatus, and shows peaks where the region is intensely stained. G-bands are not seen in the chromosomes of *L. deliense* and *Odontacarus majesticus*. According to the result of chromosomes of *L. rubellum* under the scanning electric microscope, as well as C-banding technique, it indicates that the type of chromosome of chigger mites may be holokinetic. The relation and the sense of classification among these chigger mites based on chromosome technique are discussed.

Key words chigger mites——chromosome——G-band——C band